

氏 名	岡 本 崇
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 4660 号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	Differential Regulation of the Regulatory Subunits for Phosphatidylinositol 3-kinase in Response to Motor Nerve Injury (損傷運動神経再生時における PI3K 調節サブユニット群の発現応答)
論文審査委員	主 査 教 授 木 山 博 資 副主査 教 授 高 岡 邦 夫 副主査 教 授 森 啓

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)は 110kD の catalytic subunit と regulatory subunit (RS)からなるが、最近になって、RS には多くの isoform が存在することが明らかになった。これまで、末梢運動神経損傷時の RS の発現動態は解析されていない。そこで、舌下神経軸索損傷モデルを用いて、RS の損傷運動ニューロン軸索再生過程における発現応答について解析した。

【対象および方法】6 週齢の雄性 wistar 系ラットを用いた。ペントバルビタール麻酔下にて、ラットの右側の舌下神経を切断した。手術後 1、3、5、7、14、28、49 日目にラットの脳を取り出して、クライオスタットにより凍結切片を作成した。この切片を用いて、舌下神経運動ニューロンでの PI3K mRNA の発現変動を in situ hybridization 法、及び免疫組織学的手法にて解析した。さらに、手術後 7 日目にラットの健常側と損傷側の舌下神経核を顕微鏡下で切り出し、RT-PCR 法による発現変動の解析を行った。

【結果】in situ hybridization 法により損傷側の舌下神経運動ニューロンにおける PI3K RS の発現を各 isoform 別に比較した。その結果、p85、p55、p50 は傷害応答性に発現上昇を認めたが、p85、p55 は発現上昇を認めなかった。中でも p55 の発現上昇が最も著しく、損傷後 7 日目をピークに有意に上昇していた。RT-PCR 法による定量においても、同様の傾向を示し p55 が最も著しい発現上昇を認めた。さらに、免疫組織学的染色において、p55 が傷害応答性に舌下神経損傷ニューロンの細胞質にて発現上昇していた。

【結論】舌下神経損傷後の損傷運動ニューロンにて p55 の発現が最も強く上昇したことから、神経再生時には RS の中で p55 が機能していることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)は 110kD の catalytic subunit と regulatory subunit (RS)からなるが、最近になって、RS には多くの isoform が存在することが明らかになった。これまで、catalytic subunit である p110 が損傷運動ニューロンにて発現亢進する事が知られているが、末梢運動神経損傷時の RS の発現動態は解析されていない。そこで、舌下神経軸索損傷モデルを用いて、RS の損傷運動ニューロン軸索再生過程における発現応答について解析した。

6 週齢の雄性 wistar 系ラットを用いた。ペントバルビタール麻酔下にて、ラットの右側の舌下神経を切断した。手術後 1、3、5、7、14、28、49 日目にラットの脳を取り出して、クライオスタットにより凍結切片を作成した。この切片を用いて、舌下神経運動ニューロンでの PI3K mRNA の発現変動を in situ hybridization 法、及び免疫組織学的手法にて解析した。さらに、手術後 7 日目にラットの健常側と損傷側の舌下神経核を顕微鏡

下で切り出し、RT-PCR 法による発現変動の解析を行った。

in situ hybridization 法により損傷側の舌下神経運動ニューロンにおける PI3K RS の発現を各 isoform 別に比較した。その結果、p85、p55、p50 は傷害応答性に発現上昇を認めたが、p85、p55 は発現上昇を認めなかった。中でも p55 の発現上昇が最も著しく、損傷後 7 日目をピークに有意に上昇していた。RT-PCR 法による定量においても、同様の傾向を示し p55 が最も著しい発現上昇を認めた。さらに、免疫組織学的染色において、p55 が傷害応答性に舌下神経損傷ニューロンの細胞質にて発現上昇していた。

舌下神経損傷後の損傷運動ニューロンにて p55 の発現が最も強く上昇したことから、神経再生時には RS の中で p55 が特異的に機能していることが示唆された。

本論文は、運動神経再生時に作用する PI3K の調節サブユニットは、一般的に用いられている p85 ではなく p55 であることを初めて同定したものであり、将来的には神経再生医療への応用が期待できる。よって、本研究は博士（医学）の学位を授与されるに値すると認められた。